FACULTE DE MEDECINE PARIS

LARIBOISIERE - SAINT-LOUIS

PARIS VII

3

Année 1973 N°

THESE

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(diplôme d'état)

par

DUPUY Evelyne née le 2 Juin 1948 à NEUILLY 92200

Présentée et soutenue publiquement le 1973

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE DANS LA MALADIE DE VAQUEZ

à propos de 24 observations

Président : Monsieur Jean BERNARD (Professeur)

FACULTE DE MEDECINE PARIS

LARIBOISIERE - SAINT-LOUIS

PARIS VII

Année 1973 N°

THESE

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(diplôme d'état)

par

DUPUY Evelyne née le 2 Juin 1948 à NEUILLY 92200

Présentée et soutenue publiquement le 19

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE DANS LA MALADIE DE VAQUEZ

à propos de 24 observations

Président : Monsieur Jean BERNARD (Professeur)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A ma famille,

en témoignage de mon affection

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544710_0007

A Monsieur le Professeur Jean BERNARD,

qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse,

qu'il reçoive ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et profond respect.

Au Docteur Jacques DELOBEL,

qui m'a inspiré le sujet de ce travail et m'a prodigué ses précieux conseils pendant sa réalisation,

en remerciement de son aide amicale et de l'enseignement qu'il m'a si souvent donnés.

A Monsieur le Professeur Jacques CAEN,

qui a eu la bienveillance de m'accueillir

dans son service,

avec toute ma gratitude.

Au Docteur Yvette SULTAN,

en remerciement de son enseignement amical.

Au Docteur Laurent MEEUS,

en signe de mon amitié.

Aux membres du laboratoire d'hémostase,

sans qui ce travail n'aurait pu être réalisé.

A Madame Monique GIRARD,

qui a eu la gentillesse de me dactylographier

cette thèse.

A mes amis.

Plan de la THESE

I - INTRODUCTION

II - HISTORIQUE

III - LES PLAQUETTES

IV - MATERIEL et METHODES

V - RESULTATS

- dans la maladie de Vaquez
- dans les polyglobulies secondaires

VI - CORRELATIONS

- avec les accidents vasculaires
- avec les données de l'hémogramme
  - . Hématocrite
  - . Thrombocytose
  - . Leucocytose

VII - COMPARAISONS

- avec les anomalies observées dans l'anémie réfractaire,
- avec les anomalies observées dans la leucémie myéloïde chronique.

VIII - DISCUSSION

IX - CONCLUSION

INTRODUCTION :

La maladie de Vaquez, identifiée depuis 1892 se caractérise par la grande fréquence des accidents vasculaires, qu'ils soient à type de thrombose ou d'hémorragie. Cette notion fut dégagée dés les premières publications de la maladie (55).

La fréquence des accidents thrombotiques est en règle plus importante que celle des hémorragies. De degré variable, certains troubles mineurs constituent parfois un des signes d'appel de la maladie (épistaxis, paresthésie transitoire...) les autres (accidents neurologiques graves, coronariens) font courir au malade un risque vital immédiat. Le mécanisme de ces complications n'est pas univoque. Différents facteurs ont été imputés à leur origine : l'hyperviscosité sanguine, le ralentissement circulatoire, la thrombocytose ou l'augmentation du volume sanguin (1, 3, 10 , 16).

Enfin, des travaux récents ont rapporté la notion d'anomalies fonctionnelles plaquettaires.

A l'aide de 24 polyglobulies primitives, nous nous

proposons d'étudier l'hémostase primaire. Notre but sera donc :

- de préciser les caractères et la fréquence des désordres des fonctions plaquettaires dans la maladie de Vaquez,
- de les comparer avec ceux observés aucours des polyglobulies secondaires,
- d'étudier l'incidence de ces anomalies sur le déclanchement des accidents vasculaires,
- d'établir leurs relations éventuelles avec les données de l'hémogramme,
- de les comparer avec les troubles de l'hémostase primaire décrits au cours d'autre syndrôme myélo prolifératif (leucose myéloïde chronique) et au cours de l'anémie réfractaire,
- enfin, de tenter de dégager leur mécanisme.

HISTORIQUE :

Individualisée par Vaquez en 1892 (55), la polyglobulie essentielle fut confirmée par SAUNDBY et RUSSEL en 1902 (57). ANGLADE (56) dans une thèse traitant de " l'histoire et du traitement de la maladie de Vaquez" cite la publication de TURCK en 1904 qui signale l'élévation du chiffre des plaquettes et celle de HUTCHINSON et MELLE, deux ans plus tard, remarquant la polynucléose.

Aussi, la maladie de Vaquez entre dans le cadre des syndrômes myélo-prolifératifs.

Parallèlement, la grande fréquence des accidents vasculaires était signalée. Déjà Vaquez en 1892 rendant compte " d'une forme spéciale de cyanose s'accompagnant d'hyperglobulie excessive et persistante" décrit chez son patient des vertiges qu'il rapproche alors du grand vertige de MENIERE. Il constate également des "gencives tuméfiées, saignant au moindre contact ".(55).

BOUSSER et BERNARDOU (1) ont résumé les statistiques de nombreux auteurs des années 37 à 66. Ils regroupent ainsi

944 polyglobulies primitives ou secondaires ; le nombre d'accidents vasculaires atteint 383 soit 40 %.

Pour la majorité des auteurs, la fréquence de ces complications est de 30 - 40 %. Il faut souligner toutefois qu'elle est plus élevée au cours des maladies de Vaquez. Ainsi, l'analyse de BOUSSER et BERNARDOU sur leurs observations personnelles de 74 polyglobulies dont 61 Vaquez, relève 46 % d'accidents au cours des polyglobulies essentielles et 30 % lors des secondaires. Cette remarque est également apportée par EDWARDS (23).

Le tableau A résume l'ordre de fréquence de ces accidents vasculaires, décrit par différents auteurs.

L'hyperviscosité sanguine, le ralentissement circulatoire ont été tenus pour responsables de ces complications (8, 16, 23). Certains désordres de l'hémostase ont également été décrits ; ils restent peu précis et insuffisants que ce soit la thrombocytose (1,10), une diminution de la génération de thromboplastine (25, 35).

Il faut rappeler les modifications de comportement du caillot : " the phenomenum escape" décrit par COCCONI (25), MONTALVO (9).

En parallèle avec le degré de l'hématocrite, le réseau fibrine-plaquette deviendrait incapable de retenir les globules rouges. Ce comportement anormal du caillot fut également retenu pour expliquer ces troubles de la diathèse hémorragique.

Enfin, des analyses récentes des fonctions plaquettaires rapportent plusieurs anomalies (12, 31, 42, 47, 48). Une hypoagrégabilité en présence de différents agents inducteurs est de règle. Ainsi, CAEN (42), TANGUN (47) l'observent quatre fois sur quatre que ce soit en présence d'ADP, d'adrénaline ou de collagène. Pour CARDAMONE et EDSON (48), elle existe sept fois sur les huit malades explorés. Quant à l'étude de NEEMEH, BOWIE et coll. (12) elle conclue à une diminution de l'agrégation à l'adrénaline et au collagène : l'agrégation en présence d'ADP étant variable : normale chez deux des cinq patients explorés.

Lorsque la consommation d'ADP extrinsèque a été étudiée (42, 47), elle est de règle augmentée quatre fois sur quatre pour CAEN et coll. (42) et une fois sur quatre dans les publications de TANGUN (47). Elle est associée dans les compte-rendus de ces deux auteurs à une activité agrégante du sérum, après action de la thrombine, diminuée.

Toutefois, une disponibilité réduite du facteur plaquettaire 3 constitue l'anomalie le plus souvent rencontrée. Elle est décrite dès 1961 par ABRAHAM (11) et cette observation fait l'objet de plusieurs articles : WASSERMAN et GILBERT (3) en 1964, CAEN et coll. (31), en 1966 MC CLURE (40) puis COCCONI (25) en 1968. En 1971, CARDAMONE (48) le note quatre fois sur huit malades explorés et TANGUN (47) deux fois sur quatre.

En règle de temps de saignement est normal.

LES PLAQUETTES : (60 - 58)

Nées du mégacaryocyte, ce sont des éléments discoïdes anuclés dont la demie-vie est de 120 heures.

Siège d'une intense activité métabolique, elles jouent un rôle principal dans l'hémostase et tout particulièrement au cours de l'hémostase primaire. L'hémostase primaire englobe l'ensemble des phénomènes qui concourent à l'arrêt du saignement lors d'une lésion vasculaire.

Des études microscopiques in vivo de ces modifications ont permis de distinguer différentes phases :

- l'adhésion rapide des plaquettes aux fibres de collagène,
- la libération de substances intra-plaquettaires ou phénomène de " release",
- enfin, l'agrégation des plaquettes entre elles, reversible dans un premier temps puis irréversible ou " métamorphose visqueuse" conduisant à la formation du " clou hémostatique".

1°) - l'adhésion des plaquettes aux fibres de collagène est extrêmement rapide et ne nécessite la présence d'aucun co-facteur. Par contre, elle dépend du degré de polymérisation du collagène

avec intégrité de sa structure en triple hélice, et des charges positives des groupements aminés libres de la molécule.

Après adhésion au collagène, les plaquettes augmentent de volume " swelling" ; ces modifications morphologiques s'observent en turbidimétrie et elles sont responsables de l'augmentation de densité optique que l'on observe au cours de la phase de latence de l'adhésion au collagène.

2°) - le phénomène de release

C'est la secrétion du contenu des granules intra-plaquettaires dans le milieu extra- cellulaire sans thrombocytolyse. Il nécessite de l'énergie sous forme d'A.T.P., des cations divalents (Ca^{++} et Mg^{++}). Il est responsable de l'agrégation par la thrombine et le collagène et de la seconde vague d'agrégation observée avec l'A.D.P. ou l'adrénaline.

Trois phénomènes se succèdent au cours du release :

- l'induction : seule étape spécifique, quel qu'il soit (A.D.P., adrénaline, enzyme protéolytique...),l'agent inducteur ne pénètre pas la cellule mais il envoie une impulsion.
- la transmission de cette impulsion au milieu intra-cellulaire nécessite du Calcium.
- la libération des substances intra-plaquettaires qui résulte de la contraction de la thrombasthénine sous

A.T.P. Les substances libérées sont pour le release rapide (granules denses), des nucléotides (A.D.P., A.T.P.), des cathécholamines, du calcium et potassium ; et pour le release lent (granules α) des hydrolases acides, le facteur plaquettaire 4.

Le facteur plaquettaire 3 est mis en disponibilité au cours du release.

3°) - l'agrégation plaquettaire

Nous envisagerons :

* l'agrégation plaquettaire induite in vitro par l'A.D.P.

qui peut êtremesurée par les variations de densité optique d'un P.R.P. (plasma riche en plaquettes). Elle recquiert la présence de fibrinogène et de calcium ainsi que de l'énergie.

On peut la décomposer en six phases :

- l'induction caractérisée par des modifications morphologiques de la plaquette qui devient sphérique. Cette transformation pourrait être secondaire à l'action de l'A.D.P. sur des récepteurs ou enzymes spécifiques situés sur la membrane , il n'y a pas de pénétration cellulaire.

- la transmission de l'information de la membrane aux organites intra-cellulaires.

responsables de la formation de thrombus, de déséquilibre de la diathèse hémorragique avec des conséquences cliniques multiples (purpura, hémorragie, thrombose...).

MATERIEL :

Nous avons étudié l'hémostase de 24 maladies de Vaquez suivies dans le service du Professeur Jean BERNARD.

Le diagnostic de polyglobulie essentielle est posé tout d'abord sur l'augmentation de volume globulaire, vérifié par étude isotopique ; puis sur l'un ou plusieurs des éléments suivants :

- splénomégalie,
- thrombocytose supérieure à 400.000/mm3,
- hyperleucocytose à polynucléose en dehors de tout syndrôme infectieux.

Il l'est également devant une polyglobulie absolue, si, au cours d'un bilan associant radiographies pulmonaires, gaz du sang, urographie intra-veineuse, bilan hépatique, aucune étiologie n'est retenue.

Pour chaque malade, une biopsie médullaire effectuée a objectivé une hyperplasie globale à prédominance érythrocytaire et mégacaryocytaire.

Il faut pourtant souligner que deux patients associent à un Vaquez certain, l'une une pneumoconiose, l'autre un cancer bronchique.

Les données cliniques et hématologiques figurent au tableau I.

Une étude moins complète de l'hémostase primaire a été effectuée chez quatre malades atteints de polyglobulies secondaires. Le tableau II résume l'histoire clinique et hématologique de ces malades.

Il s'agit de trois polyglobulies par insuffisance respiratoire chronique, l'autre étant secondaire à une cardiopathie congénitale cyanogène.

En règle, ces malades ont été explorés avant tout traitement (saignées, P 32 ou autre). Un malade a été étudié après saignée et un second, quatre ans après une injection de P 32 alors qu'il était en rechute.

		MEGALIE		R : Ma/th	x 10^3	x 10^3
GE...	60	+	61	2,2	400	6,5
TAV...	70	+	64	2,6	450	8,3
TAR...	68	+	62	1,6	330	5,3
BE...	50	+	46°		900	12,4
BO...	75	+	57	1,4	1.560	16
BA...	72	+	65	1,9	680	9
CL...	70	+	60	1,8	670	11,1
MA...	45	+	68	2,0	1.400	6
GO...	45	+	58	1,5	1.100	13,5
MAS...	68	+	58,5	1,7	1.300	16
CA...	59	+	59	1,8	1.800	14,7
SE...	74	+	63	1,8	940	18,4
PR...	52	+	53	1,8	620	15
CH...	57	+	56	1,8	600	16,6
VIL...	54	+	57	1,4	510	22
PE...	62	-	65,5	1,8	420	6,9
HO...	66	+	64	2,1	830	16
GR...	57	+	62	1,8	250	8
VIA...	59	+	70	1,5	520	10,6
DA...	69	-	66	2,1	440	8,2
DE...	57	+	57	1,3	425	9
FR...	47	+	61	1,9	530	10,8
PL...	69	+	67	2,4	450	10,8
BR...	54	+	61	1,8	750	8

° après saignées.

DONNEES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES CONCERNANT 24 MALADES ATTEINTS DE MALADIE DE VAQUEZ.

NOMS	AGE	SPLENO-MEGALIE	HT %	VOL. GLOB. R : Ma/ Th	PLAQUETTES x 10^3	G. B. x 10^3	ETIOLOGIE
CO...	80	-	66	1,60	300	7	Insuffisance respiratoire
GE...	40	-	63	1,27	220	7,6	Cardiopathie cyanogène
FO...	66	-	58	1,37	150	9	Insuffisance respiratoire
SM...	60	-	60	1,84	160	7,6	Insuffisance respiratoire

DONNEES CLINIQUES ET HEMATOLOGIQUES CONCERNANT 4 MALADES

ATTEINTS DE POLYGLOBULIE SECONDAIRE

Tableau II

METHODES :

Les examens effectués au laboratoire du Professeur J.P. CAEN, à l'Hôpital Saint-Louis, pour explorer l'hémostase de ces 24 maladies de Vaquez et quatre polyglobulies secondaires associent :

1 - la numération plaquettaire

après lyse des hématies, le sang est prélèvé sur "unopette" par capillarité dans un tube de 20 µl contenant 1,92 µl d'oxalate d'ammonium (d'où une dilution au 1/100).

La lecture est faite sur cellule de Malassez en microscopie de phase.

2 - une mesure du temps de saignement

selon la méthode d'IVY modifiée par BORCHGREVINK ; faite après incision à l'avant-bras sous pression continue (58).

3 - l'agrégation à 22° C in vitro

en présence de différents agents inducteurs, selon la méthode turbidimétrique de BORN (61,62).

Elle est mesurée par les variations de densité optique d'un plasma riche en plaquettes (P.R.P.), obtenu après centrifu-

gation du sang recueilli sur citrate. Le test consiste à ajouter à 0,6 ml de P.R.P., 0,2 ml de l'agent agrégant choisi :

- adénosine- diphosphate (A.D.P.) à 2 µg/ml en tampon de MICHAELIS,
- adrénaline solution de 2 à 10 µg/ml (en fonction de l'activité) en tampon de MICHAELIS,
- collagène purifié et polymérisé.

L'agitation permanente est mise en route dès le départ de la réaction.

Les variations de densité optique sont lues toutes les trente secondes du temps 0 à cinq minutes.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de densité optique par rapport à celle du témoin considéréeà 100 %.

4 - l'activité agrégante du sérum

principalement dûe à l'A.D.P. plaquettaire libéré par les plaquettes en présence de thrombine (58).

Le test consiste à mesurer à la cinquième et à la quarantième minute l'agrégation plaquettaire de 0,2 ml de plasma défibriné, à tester , auquel on adjoint 0,6 ml de P.R.P. témoin, en présence de thrombine.

Ici, également, nous exprimerons les résultats en pourcentage de densité optique par rapport à celle du témoin.

- 5 - l'agrégation plaquettaire in-vitro à 37° C

Le principe en est le même qu'à 22° c, basé sur la méthode turbidimétrique de BORN.

On utilise l'agrégomètre de BORN, il permet l'agitation continue et le P.R.P. est maintenu à 37° C aucours de la manipulation.

Les résultats sont ici exprimés en vélocité d'agrégation et intensité d'agrégation à la deuxième minute.

- 6 - la consommation de l'A.D.P. extrinsèque par le plasma (58)

C'est une mesure comparative entre un témoin et le plasma à tester.

On introduit 0,5 ml de la solution d'AD.P. à 5 µg/ml dans deux tubes, auxquels on adjoint 0,5 ml de plasma pauvre en plaquettes (P.P.P.)- normal pour l'un et 0,5 ml de P.P.P. à tester pour l'autre.

Le P.P.P. est obtenu après haute centrifugation du sang recueilli sur citrate.

Au temps 0 et 20 minutes, on prélève 0,2 ml de chaque solution et l'on ajoute 0,6 ml de P.R.P. normal. La lecture de l'agrégation est ensuite faite par méthode photométrique (mesure des variations de densité optique).

7 - la disponibilité du facteur plaquettaire 3

selon la technique de HRODEK et RABINER (63).

Le sang est prélevé sur citrate (une partie pour neuf parties de sang), puis est mis dans un bain de glace jusqu'au moment du test.

Une première centrifugation (1.500 tours/mn) permet d'obtenir le P.R.P. ; une seconde plus rapide nous donne le P.P.P. qui est conservé en tube de plastique.

Le P.R.P. est ajusté à 50.000 plaquettes/mm3

* La celite est mise en suspension dans du sérum physiologique tamponné (une partie à 0,2 M de tampon imidazole de ph 7,35 pour vingt parties de sérum physiologique) à la concentration de 15 mg/ml.

* On ajoute une partie de P.R.P. à tester à huit parties de P.P.P. du sujet normal.

0,1 ml de cette solution est ajouté à 0,1 ml de celite et on laisse incuber 20 mn à 37° C, en tube de verre.

Le temps de recalcification sera alors mesuré après avoir introduit 0,1 ml de chlorure de calcium à 0,035 M.

Pour obtenir le contenu en phospholipides 3 plaquettaires, le P.R.P. est congelé puis décongelé trois fois en plaçant le tube alternativement dans de la glace en présence d'acétone puis au bain-marie à 37° C.

8 - le dosage des nucléotides intra-plaquettaires

fait par la méthode enzymatique de BOEHRINGER et SOHNE (27).

Le sang est prélevé en matériel siliconé sur A.C.D. (neuf parties de sang pour une partie d'A.C.D.). Il est centrifugé une première fois à 1.500 tours/mn, une seconde centrifugation plus rapide va permettre d'isoler les plaquettes.

Le culot plaquettaire est lavé trois fois à haute centrifugation pendant vingt minutes en solution NaCl à 0,9 % refroidie. Il est enfin remis en suspension en solution Nacl 0,15 M ou en tampon trismaleate 0,1 M ph 7,4.

C'est à partir de cette suspension que seront dosés les nucléotides. Elle est incubée à 37°C, dix minutes en présence de 0,25 ml de substrat A.T.P. ou A.D.P., 5 mM de Mg cl2 et de 25 mM de tampon tris-maléate ph 7,4.

Au temps 0 et 10 mn, la réaction est stoppée par 1 ml d'acide perchlorique (P.C.A.).

Les nucléotides dans les surnageants perchloriques

après neutralisation ont été dosés par la méthode enzymatique et ont été exprimés en µg/mg de résidu sec ; le contrôle a été fait par chromatographie.

9 - l'agrégation des plaquettes lavées

isolées de leur plasma selon la technique mise au point par CRONBERG (64)

Le sang est prélevé sur E.D.T.A. (0,75 ml d'E.D.T.A. pour 9,25 ml de sang).

Par centrifugation (1.500T/mn), on obtient le P.R.P. Une nouvelle centrifugation (4.500 T/mn) est effectuée sur ce P.R.P. et on récupère le culot plaquettaire. Ce culot est alors mis en suspension avec une pipette non siliconée dans 25 ml de tampon E.D.T.A. (1 ml E.D.T.A. + 49 ml de tampon tris).

On effectue alors une nouvelle centrifugation de 10 minutes à 4.500 T/mn et un deuxième lavage est fait dans les mêmes conditions que ci-dessus. Le culot plaquettaire sera repris dans 6 à 8 ml de Tampon Tris, cette suspension se conserve à + 4° C. L'agrégation pourra alors être étudiée à 22° C ou 37° C selon la méthode de BORN.

A 22° C pour étudier l'agrégation en présence de fibrinogène et magnésium, on utilisera :

0,4 ml de la suspension plaquettaire obtenue ci-dessus,

0,2 ml de Tampon Tris

0,1 ml de Magnésium 1/10 (0,01M)

0,1 ml de Fibrinogène humain

En présence d'agents inducteurs :

0,4 ml de la suspension plaquettaire

0,1 ml de Tampon Tris

0,1 ml de Magnésium

0,1 ml de Fibrinogène

et soit : 0,1 ml d'A.D.P. à 20 γ/ml

soit : 0,1 ml d'adrénaline à 10 γ/ml

10 - Une étude de la libération d'A.D.P.

par ces plaquettes lavées sera envisagée.

La technique a été également mise au point par CRONBERG et CAEN (28)

- On laisse 20 minutes à 4 °C : 1 ml de la suspension plaquettaire

et 20 minutes à 37°C : 1 ml de suspension plaquettaire,

- 0,2 ml de la suspension et 1,7 ml d'eau distillée,

- 0,5 ml de la suspension, 1,4 ml de Tampon Tris,

et 0,1 ml de Kaolin à 20 mg/ml.

Une centrifugation à 4.500 tours/mn de 15 minutes est ensuite faite, on garde les surnageants dont l'agrégation sur un P.R.P. témoin sera testée à 37° C sur l'appareil de BORN, à raison de 0,9 ml de P.R.P. et 0,1 ml de surnageant.

11 - l'agrégation des plaquettes filtrées (65)

Les plaquettes sont séparées de leur milieu par filtration sur colonne de Sepharose 2 B. La récupération des plaquettes d'un P.R.P. est excellente. L'étude de leur agrégation a montré qu'elle était diminuée en présence d'A.D.P. par rapport à celle de plaquettes normales ; mais l'adjonction d'apyrase en tampon éluant et d'albumine dans la suspension de ces G.F.P. a remédié à cette perte de vélocité d'agrégation.

L'étude du profil des populations plaquettaires provenant des G.F.P. a montré une répartition en quatre bandes, identiques à celles obtenues à partir de P.R.P.

La colonne (1,5 cm de diamètre x 30 cm de hauteur) est siliconée une semaine avant l'épreuve.

Le sang est prélevé sur A.C.D., on obtient le P.R.P. et le P.P.P. par centrifugation.

30 à 35 ml de Sepharose 2 B sont versés dans la colonne (débit de 25 - 35 ml/heure), on ajoute ensuite 3 à 6 ml de P.R.P.

Le tampon éluant associe :

Na cl 0,141 M

Tris Hcl 0,0154 M

K cl 0,4 %

Mgcl2 0,02 %

Cacl2 $6 . 10^{-6}$ M

d'où un ph à 7,4

La récupération des plaquettes filtrées sur gel (G.F.P.) se fait dans des tubes de polyéthylène. L'agrégation de ces G.F.P. sera étudiée à 37° C selon la méthode de BORN.

On utilise le microagrégomètre de BORN et l'agrégation à l'A.D.P. sera faite en présence de P.P.P. témoin, P.P.P. malade ou cofacteurs.

Ainsi, on testera :

. 0,1 ml de la suspension de G.F.P. malade ou témoin

avec . 0,1 ml de substrat , ce substrat pouvant être :

0,1 ml du P.P.P. malade

0,1 ml du P.P.P. témoin

0,1 ml de cofacteurs magnésium
calcium
fibrinogène
gammaglobulines

en présence . d'AD.P. à 10 µL

Cette agrégation sera exprimée en vélocité, mesurée

à 30 secondes par la hauteur d'une perpendiculaire dressée au point d'intersection de la tangente à cette courbe d'agrégation et de la courbe d'agrégation et donnée par le rapport suivant :

$$\text{vélocité} = \frac{\text{hauteur (t) de cette perpendiculaire}}{\text{hauteur totale (différence entre la densité optique du P.R.P. et celle du P.P.P.)}} \times 100$$

mais aussi en intensité : c'est-à-dire le degré de densité optique deux minutes après l'adjonction d'A.D.P. qui sera exprimée en pourcentage selon le même rapport :

$$\text{intensité} = \frac{\text{hauteur t' de la D.O à 2 mn}}{\text{hauteur totale}} \times 100$$

RESULTATS

I - Dans la maladie de Vaquez

1 - Entrant dans le cadre de la maladie, la thrombocytose est de règle. Nous rencontrons une hyperplaquettose supérieure à 400.000/mm3 chez vingt-deux des vingt-quatre malades. Cette thrombocytose dépasse un million chez cinq d'entre eux pour atteindre un million huit cent mille chez l'un d'eux en dehors de toute thérapeutique (saignée, corticothérapie...).

2 - Le temps de saignement est normal chez tous les malades.

3 - Les résultats de l'agrégation en présence d'ADP, de collagène, d'adrénaline et ceux de l'activité agrégante du sérum à 22°C figurent au tableau III.

* l'agrégation à l'ADP est anormale chez tous les malades. Il existe de façon constante une désagrégation rapide, cette désagrégation est responsable d'une hypoagrégabilité finale à cinq minutes dans tous les cas.
A la cinquième minute, une agrégation inférieure à 75 % de celle des témoins est observée chez 23 patients sur 24, elle est inférieure à 50 % pour

21 d'entre eux.

Une agrégation dans les limites de la normale à l'ADP se rencontre chez un malade mais l'examen de la courbe note l'amorce de la désagrégation.

* En présence d'adrénaline, l'agrégation est franchement et toujours diminuée chez les quatorze malades explorés.

* l'agrégation au collagène n'est normale que chez un malade bien que nous constations chez ce patient une hypoagrégabilité en présence d'adrénaline.

Une augmentation detemps de latence est le plus souvent retrouvée seize fois sur les vingt-trois Vaquez explorés (tableau IV)

On constate également, une hypoagrégabilité quinze fois. Sept malades conservent une agrégation finale dans les limites de la normale bien que l'allongement du temps de latence (7/7) traduise un retard de l'agrégation.

* L'activité agrégante du sérum après action de la thrombine offre grossièrement deux ordres d'anomalie chez les vingt-deux malades étudiés.

En effet, chez quinze patients, l'activité agrégante du sérum, normale à la cinquième minute, est réduite

à la quarantième minute.

Cinq fois, une réduction de l'activité agrégante est notée à la cinquième minute.

Elle parait normale à la quarantième minute, deux fois mais l'activité agrégante du sérum témoin est anormalement basse, ce qui rend difficile l'interprétation des résultats de ces deux malades.

4 - Les études à 37°C confirment ces résultats chez les trois malades explorés quant aux tests d'agrégation (tableau V)

* Ainsi, en présence d'ADP, nous observons une diminution de la vélocité et de l'intensité d'agrégation particulièrement nette aux faibles doses (1.10 - 6 Moles) Il existe surtout et de façon constante une désagrégation.

* A l'adrénaline, nous retrouvons la même hypoagrégabilité qui est beaucoup plus accusée parfois nulle à 37°C.

* L'augmentation du temps de latence et la diminution de l'agrégation au collagène à 37°C reflètent les observations faites à 22°C.

* Quant à l'activité agrégante du sérum étudiéeà 37°C chez trois polyglobulies essentielles, elle est abaissée à cinq et quarante minutes. Alors que chez l'un d'eux, elle était normale à la cinquième minute à 22°C.

5 - La consommation d'ADP extrinsèque étudiée chez quinze malades est augmentée neuf fois. Il faut souligner toutefois que l'activité agrégante du sérum est nettement diminuée à la quarantième minute chez les six patients normaux.

6 - Explorée chez vingt malades, la disponibilité du facteur plaquettaire 3 est réduite chez douze d'entre eux.

7 - Les nucléotides intra-plaquettaires dosés chez six Vaquez sont toujours normaux.

8 - Parmi ces vingt-quatre maladies de Vaquez, l'agrégation des plaquettes lavées, isolées de leur plasma a été observée chez sept d'entre eux.

En effet, ainsi que le montre le tableau VI, l'agégation des plaquettes lavées en présence de Magnésium-Fibrinogène,

Magnésium-Fibrinogène et ADP ou Magnésium-Fibrinogène et adrénaline est normale chez deux malades. Or, chez ces mêmes patients, les tests explorant les fonctions plaquettaires à 22°C, sans technique d'isolement des plaquettes, objectivaient une hypoagrégabilité.

Une diminution de l'agrégation des plaquettes lavées existe chez les cinq autres malades.

Une seule fois, la libération d'ADP après incubation des plaquettes lavées, qu'elle soit spontanée ou induite par eau distillée ou Kaolin est réduite.

% D.O. par rapport au témoin	Nombre de Malades			
	0-25 %	26-50 %	51-75 %	76-100 %
A.D.P. 2 ‰ à 2'	2	1	10	11
A.D.P. 2 ‰ à 5'	7	14	2	1
A.D.R. 10 ‰ à 3'	3	8	3	0
Collagène	3	10	2	8
A.A.S. 5'	0	1	4	17
A.A.S. 40'	9	8	3	2

Résultats de l'agrégation à 22° exprimés en pourcentage de diminution de la densité optique par rapport à celle du témoin.

Tableau III

- Allongement du temps de latence par rapport au témoin (en secondes)	0.30''	30.60''	60''. 120''	> 120''
- Nombre de malades	7	7	7	2

. Agrégation au Collagène . Temps de latence.

Tableau IV

Nom	MAS...	CH...	PR...
Nombre de plaquettes $\times 10^3$	1 300	600	620
Agrégation Collagène			
. latence (secondes)	+ 110"	+ 25"	+ 45"
. vélocité (%)	1,5	66	76
. intensité	0	90	66
Agrégation A.D.P. 5.10^{-6} M			
. vélocité	100	57,1	80
. intensité	95	66	62
$1.10.^{-6}$ M			
. vélocité	50	21,2	80
. intensité	6	6	66
A.A.S. 5'			
. vélocité	51,5	73,7	25,1
. intensité	50	52,1	11,5
A.A.S. 30'			
. vélocité	4,3	7,8	0
. intensité	25	0	0

Résultat de l'agrégation à 37° en P.R.P. chez trois malades externes en % de D.O. par rapport au témoin dans les mêmes conditions.

Tableau V.

des G.F.P. du témoin B, elle passe de 54% à 32% selon que le substrat utilise du PPP témoin ou le PPP du malade testé.

Le phénomène est encore plus marqué au cours de l'agrégation des G.F.P. du malade où la vélocité de 34% (dans le PPP témoin) chute à 3,2% en présence de leur propre PPP.

Par contre, en présence de co-facteurs, elle est à 22% alors que la vélocité d'agrégation témoin est de 17%.

	P.P.P. Te A				P.P.P. Malade				Cofacteurs			
Malade - DE...	A.D.P. 5.10^{-4}		A.D.P. 5.10^{-5}		A.D.P. 5.10^{-4}		A.D.P. 5.10^{-5}		ca^{++}		ca^{++}	
	V.	I.	V.	I.	V.	I.	V.	I.	V.	I.	V.	I.
G.F.P. Témoin Plaq. 250.10^3	49	93	34	58	41	81	28	59	17,3	44	13,8	38,7
G.F.M. Malade Plaq. 300.10^3	7,5	26	22	10	3	15	1,7	11	27	59	25,7	54,6

* Agrégation in vitro en présence d'A.D.P. des plaquettes filtrées sur gel avec épreuves croisées entre un témoin et le malade.

Malade = PL...	P.P.P. Te. C				P.P.P. Malade				Cofacteurs			
	A.D.P. 5.10^{-4}		A.D.P. 5.10^{-5}		A.D.P. 5.10^{-4}		A.D.P. 5.10^{-5}		Ca^{++}		Ca^{++}	
	V.	I.	V.	I.	V.	I.	V.	I.	V.	I.	V.	I.
G.F.P.Témpin* C												
Plaq. 325.10^3	31	64,4	9	20,4	25,7	51,5	6,7	13,7	13	36,4	6,2	23,5
G.F.P. Malade												
Plaq. 400.10^3	25.	66	16,4	50,2	19	48	4,5	8,4	31	72,4	28,4	77

* Témoin avec une hématocrite à 35 %

	P.P.P. Te. B		P.P.P. Malade		Cofacteurs
Malade - VI ...	A.D.P. 5.10^{-4} V.	A.D.P. $5:10^{-5}$ V.	A.D.P. 5.10^{-4} V.	A.D.P. 5.10^{-5} V.	Ca^{++} V.
G.F.P. Témoin Plaq. 200.10^3	54	25	32	16	17
G.F.P. Malade Plaq. 600.10^3	34	5,8	3,2	0	22
300.10^3	16	0			

* Cinq malades ont eu une exploration des fonctions plaquettaires à deux reprises au cours de l'évolution de la maladie (tableau VIII).

Dans la majorité des cas (4 sur 5), que le malade soit en période de rémission ou de rechute, les agrégations à 22°C, la disponibilité du facteur plaquettaire 3, l'agrégation des plaquettes lavées restent parallèles.

Chez un patient, nous constatons une correction de l'agrégation en présence d'ADP ou de collagènes, en période de rémission. Mais, ces modifications restent dissociées des autres tests qui sont perturbés chez ce malade.

Nous pouvons donc considérer que les anomalies de l'agrégation à 22°C sont grossièrement identiques quel que soit le stade évolutif de la maladie.

* Une correction de la citratation en fonction du degré de l'hématocrite a été apportée chez six malades (tableau IX).

Elle entraîne des modifications modérées et surtout dissociées quant aux résultats de l'agrégation ; à savoir une amélioration de l'agrégation au collagène chez un malade et une diminution de la désagrégation en présence d'ADP chez un autre

patient.

Cette correction ne semble donc pas apporter de modifications sensibles quant aux résultats de l'agrégation.

NOMS	Ht	A.D.P. 2'	A.D.P. 5'	Collagène		A.A.S.	
				latence	Intensité	5'	40'
BRI...	62 49	84 84	66 34	0 + 210''	27 40	93 97	36 31
GO...	58 47	63 100	37 72	+ 90'' 0	50 79	92 87	50 45
BA...	65 48	66 76	25 42	+ 60'' + 300''	85 24	93 73	83 8
TA...	62 47	100 92	80 92	+ 60'' + 180''	98 86	40 94	26 40
BE...	53 46	65 65	21 40	0 90''	29 50	90 90	47 7

RESULTATS DE L'AGREGATION A 22° ETUDIEE CHEZ CINQ MALADES A DIFFERENTES PERIODES DE LA MALADIE (EN % DE D.O. PAR RAPPORT AU TEMOIN)

Tableau VIII

II - Dans les polyglobulies secondaires :

L'agrégation des plaquettes de quatre polyglobuliques a été explorée uniquement à 22°C. Elle figure au tableau X.

1 - nous constatons une hypoagrégabilité en présence d'adrénaline chez un malade, cette diminution de l'agrégation est nettement inférieure à celle observée au cours des Vaquez où, en présence d'adrénaline, l'hypoagrégabilité était constante et surtout franche.

2 - Avec le collagène, les trois malades explorés sont anormaux et associent les trois possibilités d'anomalie :

* augmentation du temps de latence avec agrégation finale normale pour l'un,
* augmentation du temps de latence avec hypo agrégabilité. Cette diminution de l'agrégation est normale chez ce malade si l'on corrige la citratation.
* hypoagrégabilité sans augmentation du temps de latence.

3 - Enfin et surtout, le fait constant chez ces trois polyglobulies secondaire est une agrégation en présence d'ADP strictement normale.

Un seul malade amorce une désagrégation.

4 - L'activité agrégante du sérum en règle normale est diminuée chez un malade à la quarantième minute.

Il faut remarquer que ces altérations restent dissociées et surtout très modérées. Aussi à l'adrénaline, il n'y a pas d'hypoagrégabilité inférieure à 60% de l'agrégation témoin

NOMS	A.D.P. 2'	A.D.P. 5'	A.D.R. 3'	Collagène		A.A.S.	
				Latence	Intensité	5'	40'
CO...	92	100	79	N	62	83	88
GE...	95	68	64	+ 65''	10	100	100
FO...	89	73	91	+ 30''	92	100	31
SM...	100	80	100	-	-	100	100

Résultats de l'agrégation à 22° chez quatre malades
avec polyglobulie secondaire. (en % de D.O. par rapport au témoin)

Tableau X

L'existence d'anomalies de l'hémostase primaire aucours des maladies de Vaquez est donc confirmée.

Si le mécanisme est à discuter, il est intéressant d'étudier le retentissement de ces troubles biologiques sur la fréquence des accidents vasculaires et d'éventuelles relations avec les données de l'hémogramme.

I - Corrélation avec les accidents vasculairescliniques

Sur cette analyse de vingt-quatre polyglobulies primitives, la fréquence des accidents thrombotiques ou hémorragiques dépasse celle observée par la plupart des auteurs. Elle atteint 62,5 %.

Ces complications furent fréquemment révélatrices de la maladie de Vaquez. Parfois, elles précèdent de deux à trois ans la découverte de la polyglobulie. De toute façon, elles amènent à indiquer une numération formule sanguine ce qui permet un dépistage de la maladie.

Les complications hémorragiques restent modérées qu'elles soient :

- spontanées à type d'épistaxis, ecchymoses, hématomes musculaires à répétition,
- ou provoquées : hémorragies post-opératoires ou hémorragies après extraction dentaire.

Par contre, les accidents thrombotiques paraissent plus fréquents mais il faut souligner l'âge des malades, l'athérosclérose souvent associée. Mettant parfois en jeu la vie du malade ils associent : - des ischémies coronariennes allant de l'angor à l'infarctus myocardique,
- des artérites des membres inférieurs,
- des phlébites isolées ou à répétition pouvant alors se compliquer d'embolie pulmonaire.

Il est difficile de faire la part entre un accident hémorragique ou thrombotique pour expliquer les troubles neurologiques fréquents que l'on rencontre dans la maladie de Vaquez. Pourtant, leur caractère transitoire avec régression spontanée complète, abonde en faveur d'une origine thrombotique.

Il s'agit de paresthésies des membres
d'hémiparésie
d'hémiplégie avec aphasie spontanément régressive
de bourdonnements d'oreille.

de	Nombre de malades avec accidents	Nombre d' accidents	Accidents thrombotiques				Hémorragies
			neuro-logiques	coro-nariens	veines	artères	
	15	22	6	5	4	1	5

Les troubles cliniques surviennent plus facilement au cours des maladies de Vaquez en poussée (souvent révélateurs de la maladie) que lors de polyglobulie absolue équilibrée. Nous réjoignons les constatations de Wassermann (38) qui note 40 % d'accidents vasculaires au cours des "polycythémia vera" non contrôlées et 5 % au cours des Vaquez contrôlés par le traitement. De même Fauvert et coll. (5) remarquent une fréquence de complications thrombotiques ou hémorragiques passant de 60 à 36 %, avant et après traitement par P 32.

Nous avons pourtant constaté chez trois malades, la survenue d'ischémie coronarienne en période de rémission. Mais, il faut rappeler l'âge de ces malades de 65 à 70 ans, l'hyper - tension artérielle et le degré d'athéro-sclérose associés.

Il est impossible d'établir un lien entre la sévérité des atteintes hémorragiques et thrombotiques et le degré des altérations fonctionnelles plaquettaires.

En effet, certains malades n'ont aucun trouble clinique particulier de cet ordre alors que les épreuves d'agrégation plaquettaire sont très perturbées.

Aucun trouble clinique pour M. BO... dont l'agrégation est nulle en présence d'ADP, pratiquement nulle au collagène.

Par contre, les tests de M. TA..., qui a accusé des épistaxis, des ecchymoses spontanées et à répétition avec paresthésies des membres supérieurs, sont modérément pathologiques : hypoagrégabilité discrète à l'adrénaline, agrégation normale au collagène et désagrégation sans hypoagrégabilité initiale en présence d'ADP.

Ainsi, que les accidents soient à type de thrombose ou d'hémorragie, aucun parallélisme ne peut être établi avec les anomalies de l'hémostase primaire.

La génèse de ces complications vasculaires reste imprécise. Mais il est certain que le traitement amenant une correction du degré de la polyglobulie, apporte une amélioration clinique et une stabilisation. Pourtant, cette élévation de la masse sanguine ne suffit pas à elle seule, à expliquer la survenue et la fréquence de ces troubles cliniques dans les Vaquez.

Il en est de même pour les altérations des fonctions plaquettaires.

II - Corrélations avec les données de l'hémogramme

1) avec l'hématocrite

Depuis longtemps, fut évoqué pour expliquer la grande fréquence des accidents vasculaires rencontrés au cours des Vaquez, l'élévation de la masse sanguine (8,16,37). Cocconi (25) établit un parallèle entre le degré de l'hématocrite et un comportement anormal du caillot qui serait responsable de ces complications. En outre, ces accidents vasculaires surviennent plus souvent lors de polyglobulies primitives en période de dépistage ou non équilibrées par le traitement qu'ils soient mineurs ou graves, ils restent souvent un des signes révélateurs de la maladie soit un des signes d'alarme précédant la rechute. L'élévation de la masse sanguine a certainement un rôle dans la survenue des troubles cliniques, mais elle reste insuffisante pour en expliquer la génèse.

Nous avons vu qu'il n'existait pas de relation entre la sévérité des complications vasculaires et le degré des troubles fonctionnels plaquettaires.

Nous avons donc recherché une éventuelle relation

entre la valeur de l'hématocrite et l'altération fonctionnelle plaquettaire. Cette relation n'a pas été établie.

en effet, des tests d'agrégation plaquettaire effectués chez un même malade, à des stades évolutifs différents ainsi que l'objective le tableau XI, restent identiques. Ainsi, le malade BR... conserve des agrégations plaquettaires identiques pour une variation du taux de l'hématocrite de 49 à 62 %.

Mais, il faut souligner que s'il existe une correction du taux de l'hématocrite chez certains malades, le degré de la thrombocytose reste souvent identique ce qui rend plus délicat l'interprétation de ces résultats.

Il semble bien toutefois n'y avoir aucune relation entre la sévérité des anomalies plaquettaires et l'élévation de la masse sanguine.

2) avec la thrombocytose

De règle, elle dépasse 400 .000/ mm3 et atteint chez cinq malades 1.000.000 et plus.

Ainsi que l'objective le tableau, les agrégations en présence d'AD.P. ou d'adrénaline ne semblent pas se modifier

quel que soit le degré de la thrombocytose. Par contre, il semble exister une relation entre l'allongement du temps de latence au collagène et le nombre des plaquettes (tableau XII).

3) avec le chiffre des globules blancs

Les constatations sont voisines et, si le chiffre des globules blancs ne semble pas influencer des agrégations à l'A.D.P. ou l'adrénaline, il existe u n parallélisme entre l'allongement du temps de latence au collagène et le degré de la polynucléose (tableau XIII).

% D.O. (par rapport au témoin)	Nombre de Malades					
	A.D.P. 5'	A.D.R. 3'	Collagène		A.A.S. 40'	F.P.3
	I < 50%	I < 50%	Lat > N	I < 50%	I < 50%	< N.
Hématocrite 65.70%	6/6	3/3	4/5	1/5	3/5	2/4
60.65%	6/9	4/5	4/9	6/9	7/8	4/6
55.60%	7/7	3/4	6/7	3/7	6/7	4/7
< 55%	2/2	1/2	2/2	2/2	2/2	1/2

Etude de l'agrégation plaquettaire in vitro à 22° C en fonction du degré de l'hématocrite.

% D.O. (par rapport au témoin)	Nombre de Malades					
	A.D.P. 5'	A.D.R. 3'	Collagène		A.A.S.40'	F.P.3
	I < 50%	I < 50%	Lat > N	I < 50%	I < 50%	< N
Plaquettes						
> 1000.10³	5/5	3/3	5/5	3/5	4/5	4/5
500 - 1000.10³	8/11	4/7	9/11	6/11	9/11	5/9
< 500.10³	7/8	3/4	2/7	3/7	3/3	2/5

Etude de l'agrégation plaquettaire in vitro à 22° C en fonction du nombre de plaquettes.

TABLEAU XIII

% D.O. (par rapport au témoin)	Nombre de Malades					
	A.D.P. 5'	A.D.R. 3'	Collagene		A.A.S.40'	F.P.3
	I < 50%	I < 50%	Lat > N	I < 50%	I < 50%	< N
Leucocytes						
> 10.10^3	12/14	6/8	12/13	7/13	12/14	6/11
< 10.10^3	9/10	5/6	4/10	5/10	7/8	5/8

Etude de l'agrégation plaquettaire in vitro à 22° C en fonction de la Leucocytose

La complexité de ces anomalies de l'hémostase primaire rencontrée au cours des polyglobulies essentielles nous ont amené à les comparer à une maladie entrant dans le cadre des syndrômes myélo-prolifératifs : la leucémie myéloïde chronique et avec les anémies réfractaires.

* Comparaison avec les troubles observés dans les anémies réfractaires

Les différentes publications concernant les tests d'agrégation et les fonctions plaquettaires sont assez identiques (47,48,49, 52). Ellesdécrivent une hypoagrégabilité en présence de différents agents agrégants A.D.P. adrénaline et collagène. Une disponibilité du facteur plaquettaire 3 est retrouvée fréquemment réduite (47,48).

Le fait constamment observé est un effondrement du taux des nucléotides intra-plaquettaires alors que la consommation de l'A.D.P. extrinsèque est normale. Il distingue ainsi les troubles décrits dans les anémies réfractaires de ceux rencontrés dans les Vaquez ou les leucémies myéloïdes chroniques.

En effet, les anomalies enzymatiques multiples caractériseraient les anémies réfractaires (52). L'hypothèse d'une maladie de la cellule souche a été soulevée (52). Il existe

en outre un effondrement du taux des nucléotides intra-plaquettaires, responsable de l'hypoagrégabilité.

Aucune identité avec la maldie de Vaquez où le taux des nucléotides dosés six fois est toujours normal.

* Comparaison avec les troubles observés dans les leucémies myéloïdes chroniques

Les données de la littérature (12, 42, 47, 48, 51) rapportent quant aux troubles des fonctions plaquettaires au cours des leucémies myéloïdes chroniques, une hypoagrégabilité franche à l'adrénaline, plus modérée à l'A.D.P., parfois une agrégation normale à l'A.D.P. Il existe surtout de façon quasi-constante une augmentation de la consommation de l'A.D.P. extrinsèque.

L'activité agrégante du sérum est anormale mais en fait par augmentation de la consommation d'A.D.P.. Il faut également noter une disponibilité réduite du facteur plaquettaire 3.

L'association de ces différentes anomalies :

- hypoagrégabilité nette à l'adrénaline voire nulle,
- hypoagrégabilité en présence de collagène,
- hypoagrégabilité plus modérée à l'A.D.P.
- activité agrégante du sérum après action de la thrombine réduite mais par,
- augmentation de la consommation d'A.D.P.

a permis à de nombreux auteurs (47,51) de souligner l'hypothèse d'une anomalie plasmatique.

PINKAS, CHIVOT, CAEN (21) étudiant le métabolisme de l'adénosine dans le plasma et les plaquettes de leucémie myéloïde chronique ont constaté que l'agrégation des plaquettes dans leur plasma était anormale alors que celle des plaquettes lavées, isolées du plasma malade, se normalisait. L'habileté à dégrader l'A.D.P. par le plasma de leucémie myéloïde chronique était plus élevée et le phénomène était en relation avec une activité enzymatique exagérée.

Le trouble plasmatique a été prouvé en effectuant des épreuves croisées entre la malade et le témoin. En effet, l'incorporation d'adénosine marquée au C 14 est diminuée dans les plaquettes de leucémies myéloïdes chroniques, non séparées du plasma leucémique.

Cette incorporation se corrige si on l'étudie sur des plaquettes de leucémie myéloïde chronique mais en présence de plasma témoin sain. Cet effet inhibiteur du plasma de L.M.C. serait dû à une augmentation de l'activité de l'A.D.A. déaminase * (retrouvée chez onze de ces quatorze malades explorés dans ce travail).

* Adénosine $\xrightarrow{\text{ADA Déaminase}}$ inosine

Pourtant CAEN, SULTAN et DELOBEL (42) observant les anomalies au cours d'une leucémie myéloïde chronique reposent le problème.

En effet, s'ils retrouvent bien l'augmentation de la consommation de l'AD.P. extrinsèque par le plasma du malade , au cours d'épreuves croisées entre le malade et un témoin, le comportement des plaquettes de L.M.C., en dehors de leur milieu est perturbé également. Ils soulèvent là la possibilité d'une anomalie plasmatique mais aussi plaquettaire.

Mais nous pouvons déjà rapprocher de ces remarques celles établies au cours des Vaquez, car nous avons constaté dans les polyglobulies primitives :

- une hypoagrégabilité franche à l'adrénaline,
- une désagrégation souvent précoce à l'A.D.P.
- une activité agrégante du sérum abaissée à quarante minutes,
- une consommation de l'A.D.P. extrinsèque en règle augmentée.

Pourtant cet effet inhibiteur du plasma sur l'agrégation plaquettaire, s'il existe dans les leucémies myéloïdes chroniques et dans les Vaquez ne semble pas être le seul facteur responsable de ces troubles de l'hémostase primaire dans les polyglobulies primitives.

. Les plaquettes lavées, isolées de leur plasma, sont hypoagrégables in vitro 5 fois sur 7 en présence d'A.D.P. ou d'adrénaline ; par contre, la libération d'A.D.P. par ces mêmes plaquettes et dans les mêmes conditions, qu'elle soit spontanée ou induite par kaolin ou eau distillée est en règle normale.

. Enfin, nous insisterons sur l'agrégation des plaquettes filtrées par gel (G.F.P.) avec les épreuves croisées entre malade et témoin. Les observations sont identiques chez les trois malades explorés.

In vitro, les G.F.P. malades agrègent moins bien que les G.F.P. témoins en présence de P.P.P. témoin. Cette hypoagrégabilité s'aggrave si les G.F.P. malades sont testées dans leur propre P.P.P. alors que l'agrégation des G.F.P. témoin n'est que très dicrètement diminuée par le P.P.P. malade.
Par contre, elle se corrige entièrement si les G.F.P. malades, isolées de tout plasma, sont testées toujours à l'AD.P., en présence de co-facteurs.

B - La constatation de ces désordres des fonctions plaquettaires au cours des polyglobulies primitives, nous a amené à

soulever certains problèmes et à tenter d'y apporter une réponse.

1 - Ces anomalies sont-elles spécifiques de la maladie de Vaquez ?

a - Leur constance, leur caractère monomorphe plaident en la faveur de cette spécificité.

b - Deux autres arguments comparatifs peuvent également être retenus :

- les caractères différentiels quant aux résultats de l'agrégation in vitro à 22°C, que nous avons observés chez quatre polyglobulies secondaires. En effet, s'il existe quelques anomalies de l'agrégation en présence de collagène (allongement du temps de latence ou hypo-agrégabilité) ; elles sont très modérées, nettement inférieures à celles décrites au cours des Vaquez. L'agrégation in vitro à l'A.D.P. reste normale, un seul malade amorçe à 5 minutes une discrète désagrégation. Une plus grande série de malades devra être explorée pour conclure.

- les analogies avec les altérations des fonctions plaquettaires décrites dans un autre syndrôme myéloprolifératif : la leucémie myéloïde chronique (12, 42, 47, 51).

On y retrouve effectivement les troubles de l'agrégation in vitro en présence d'A.D.P., l'hypogrégabilité marquée à l'adrénaline, l'activité agrégante du sérum après action de la thrombine réduite à quarante minutes avec une augmentation de la consommation de l'A.D.P. extrinsèque ; enfin une disponibilité réduite du facteur plaquettaire 3.

S'il est encore prématuré d'affirmer cette spécificité des altérations des fonctions plaquettaires au cours des maladies de Vaquez, des études ultérieures plus nombreuses et plus poussées permettront de la vérifier.

2 - Existe-t'il une corrélation entre la sévérité de ces désordres et certaines données biologiques : masse sanguine, chiffre des plaquettes et leucocytes ?

a - Ainsi que le montre le tableau XI, le degré de l'hématocrite n'influence pas l'altération des fonctions plaquettaires. Cette constatation est confirmée par l'existence d'une agrégation plaquettaire quasi-normale au cours des polyglobulies secondaires où l'élévation de la masse sanguine est voisine de celle observée lors de polyglobulies primitives.

b - Si le degré de la thrombocytose ou de la polynucléose ne semble avoir aucune influence sur les agrégations in vitro, en présence d'A.D.P. ou d'adrénaline, il n'en est pas de même pour l'agrégation au collagène. En effet, l'allongement du temps de latence au collagène parait proportionnel au chiffre de la thrombocytose ou de la leucocytose (tableaux XII et XIII).

3 - Quel est le rôle de ces anomalies dans la survenue des complications vasculaires ?

Ces troubles de l'hémostase primaire ne jouent vraisemblablement qu'un rôle d'appoint dans le mécanisme des accidents thrombotiques et hémorragiques.

Ils existent quel que soit le stade évolutif de la maladie ; or, ces complications cliniques sont beaucoup moins fréquentes si la maladie de Vaquez est équilibrée. Ainsi, en période de rémission, ces accidents vasculaires disparaissent alors que les anomalies biologiques persistent.

C - Nous avons tenté de dégager quelques hypothèses quant au mécanisme de ces anomalies.

1 - Les analogies observées avec les altérations décrites au cours des leucémies myéloïdes chroniques où l'hypothèse d'un trouble plasmatique a été soulevéepar certaine auteurs (22) certaines constatations : activité agrégante du sérum réduite à quarante minutes avec augmentation de la consommation de l'A.D.P. extrinsèque et l'inhibition de l'agrégation des plaquettes filtrées malades par le plasma malade, amèneraient à tenir pour responsable de ces anomalies cet effet inhibiteur du plasma malade sur l'agrégation des plaquettes.

2 - Mais cet éventuel trouble plasmatique ne peut expliquer le fait que l'agrégation des G.F.P. témoins n'est que très peu modifiée par le P.P.P. malade, la persistance de l'hypoagrégabilité avec des plaquettes isolées de leur plasma (plaquettes lavées) ou en présence de plasma normal (plaquettes filtrées).

3 - L'existence d'une agrégation finale au collagène normale malgré une augmentation du temps de latence, de résultats normaux de l'agrégation in vitro des plaquettes lavées chez deux malades, d'une agrégation en présence d'A.D.P. sensible au concentration de ce réactif ; à 37°C chez les trois malades explorés, l'hypoagrégabilité plaquettaire était surtout nette aux faibles doses d'A.D.P. (1.10^{-6} M) permettent d'éliminer une thrombasthénie et d'affirmer

que la plaquette réagit aux agents inducteurs de l'agrégation. L'agrégation normale des G.F.P. malades en présence de co-facteurs confirme cette constatation.

4 - On ne peut non plus retenir une malade du "pool-vide " puisque le taux des nucléotides intra-plaquettaires est normal chez les six malades explorés. Nous avons également observé une libération de l'A.D.P. par les plaquettes lavées normales, qu'elle soit spontanée ou induite par kaolin ou eau distillée.

Enfin, des études de microscopie électronique publiées par LAGERLOF et FRANZEN (26) n'objectivaient aucune anomalie quant au contenu des granules.

5 - Par contre, nous ne pouvons éliminer totalement une maladie du release car il existe une hypoagrégabilité au collagène, une disponibilité réduite du facteur plaquettaire 3 (60 % des cas) et une activité agrégante du sérum diminuée à cinq minutes chez 1/3 des malades. cette anomalie du release reste à discuter. Nous ne pouvons en effet préciser si la responsabilité en incombe à un désordre plaquettaire propre, un facteur extrinsèque ou à l'intrication de ces deux éléments.

Il faut remarquer que l'agrégation des G.F.P. malades,

isolées de tout plasma et mises en présence de co-facteurs, est normale.

Or, dans ces conditions, l'apport calcique semble être optimum ; et nous connaissons le rôle majeur de ce cation divalent au cours des phénomènes de libération des substances intra-plaquettaires et d'agrégation plaquettaire. Ainsi, un déséquilibre des échanges entre la plaquette et le milieu extra-cellulaire pourrait exister au cours des polyglobulies primitives et être responsable des anomalies des fonctions plaquettaires ; l'apport de calcium corrigerait alors ce trouble.

6 - Ces diverses constatations nous ont amené à soulever l'hypothèse d'une thrombopathie d'environnement = maladie de la plaquette dans son milieu n'apportant pas les conditions requises à une agrégation normale.

Le rôle de la thrombocytose, de la polynucléose sur l'allongement du temps de latence au collagène (traduisant un retard de cette agrégation), l'agrégation normale des G.F.P. malades en présence de co-facteurs soutiennent cette hypothèse qui reste toutefois à prouver par des épreuves plus fines et plus précises.

CONCLUSION :

Au terme de ce travail, nous pouvons affirmer qu'il existe des altérations fonctionnelles plaquettaires au cours de la maladie de Vaquez.

* Ces anomalies bien que d'intensité variable, sont constantes.

Elles associent une hypoagrégabilité in vitro en présence de différents agents inducteurs, une disponibilité réduite du facteur plaquettaire 3, une activité agrégante du sérum abaissée à quarante minutes avec chez certains malades une augmentation de la consommation de l'ADP extrinsèque.

* l'élévation de la masse sanguine n'influence pas ces désordres de l'agrégation.

Par contre, le degré de la thrombocytose ou celui de la polynucléose ont un rôle certain sur l'allongement du temps de latence au collagène.

* Nous avons pu rapprocher ces constations de celles décrites au cours d'un autre syndrôme myélo- prolifératif : la leucémie myéloïde chronique.

Bien que notre série de malades soit insuffisante ces troubles biologiques semblent différencier la maladie de Vaquez des polyglobulies secondaires où les fonctions plaquettaires restent dans les limites de la normale.

Il faudra des études comparatives plus nombreuses pour vérifier si ces anomalies sont spécifiques de la maladie de Vaquez.

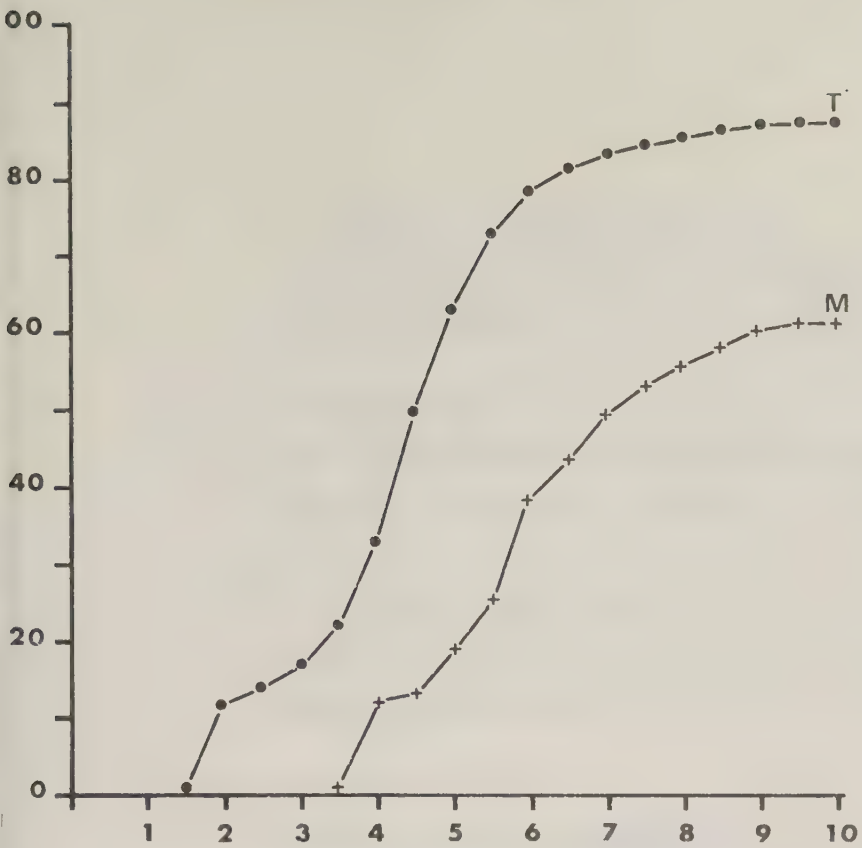
* Nous n'avons pu établir aucun parallélisme entre ces données biologiques et la survenue des complications vasculaires.

* Que penser du mécanisme ? Il reste à discuter.

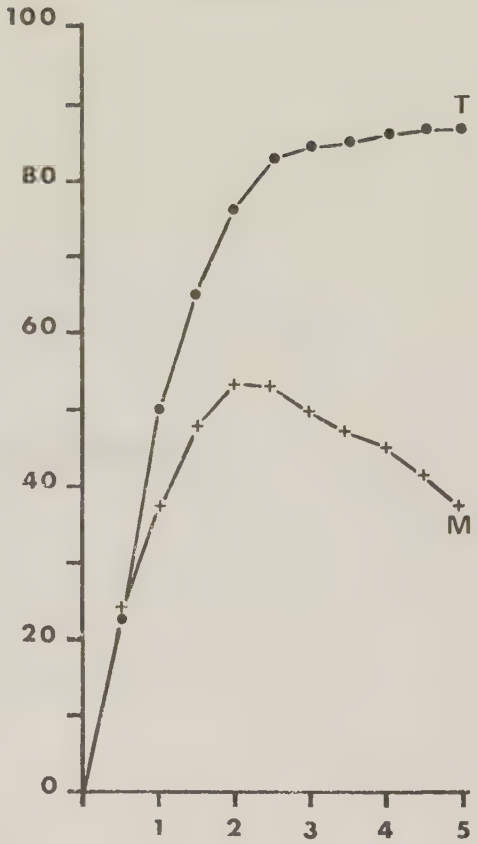
La correction des anomalies si les plaquettes sont testées, isolées de tout plasma, en présence de co-facteurs, le rôle de la thrombocytose et de la polynucléose sur l'allongement du temps de latence au collagène, nous ont amené à soulever l'hypothèse d'une thrombopathie d'environnement.

Il est nécessaire d'envisager des explorations plus fines et plus nombreuses qui permettront d'en vérifier le mécanisme.

COLLAGÈNE 1/10

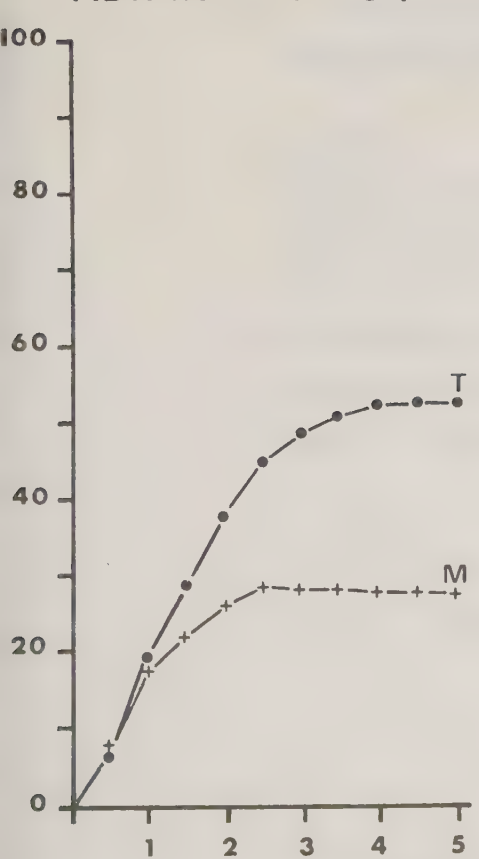


ADP 2 Y

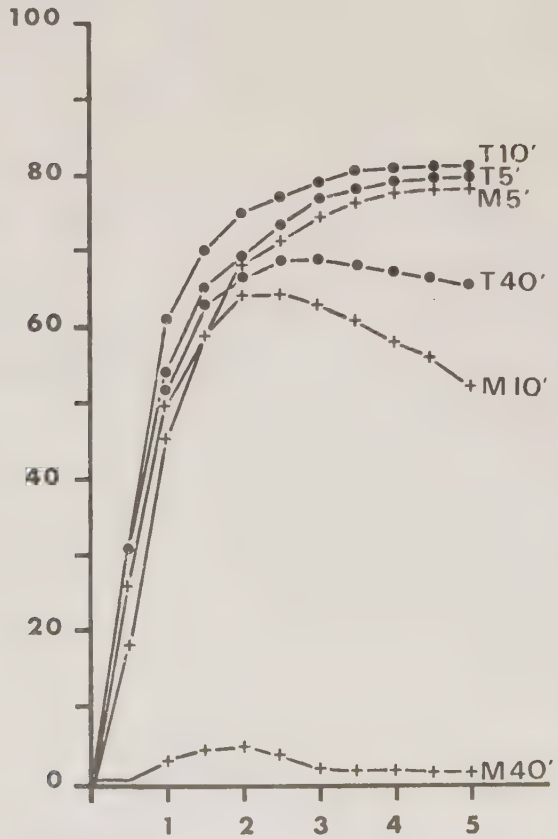


TEMPS D'INCUBATION EN MINUTES

ADRÉNALINE 10 Y



AAS



TEMPS D'INCUBATION EN MINUTES

GRÉGATION PLAQUETTAIRE ET ACTIVITÉ AGRÉGANTE DU SÉRUM A 22

Exemple **Mme VIL...**

1 - BOUSSER J., BERNARDOU A. -
Les accidents vasculaires des polyglobulies.
Coeur Med. Inter. 1966, 5 , 3 - 17

2 - SOULIER J.P.
Les complications thrombotiques des polyglobulies.
Vie Med. 1965, 46 , 1375-1380

3 - WASSERMAN L.R., GILBERT H.S. -
Surgical bleeding in polycythemia vera.
Ann. N.Y. acad. Sci. 1964 , 115 , 122 -138

4 - LEVY J.P. -
Diagnostic des polyglobulies.
Vie Med. 1961 , 42 , 1727 - 1740

5 - Séance spéciale sur les polyglobulies du 20.2.61
Nouv. Rev. Franç. Hemat. 1961, 1 , 441 - 518

6 - PERLES
Diagnostic des polyglobulies.
Gaz. Med. Fr. 1967, 74 , 3724 - 3731

7 - CAMPBELL A., EMERY E.W. -
Diagnostic and treatment of polycythemia vera.
Lancet 1970 , 1 ,1074 - 1077

8 - BOUSSER J. -
Les polyglobulies.
Vie Med. 1971, 1 , 517 - 522

9 - SHEEHY T.W., MONTALVO C. -
The " escape phenomenum" of polycythemia vera ; its relation to hemorrhage and thrombosis in the disease.
Amer. J. Med. Sci 1962 , 243 , 183 - 192

10 - DAWSON A.M., OYSTON D. -
The influence of the platelet count on the incidence of thrombotic and hemorrhagic complications in polycythemia vera.
Postgrad Med. J. 1970 , 46 , 76 - 78

11 - ABRAHAM J.P. -
A study on the defects in the blood coagulation mecanisms in polycythemia vera.
Amer. J. Clin. Path. 1961 , 36 , 7 -15

12 - NEEMEH J.A., BOWIC E.J., and all -
Quantitation of platelet agregation in myeloproliferative disorders.
Amer. J. Clin. Path. 1972 , 57 , 336 - 347 (Abstract)

13 - OLMER J., MOUGIN M., and all
Découverte fortuite d'une macroglobulinémie dans une polyglobulie essentielle.
Nouv. Rev. Franç. Hémat. 1967 , 7 , 890 -894

14 - BINDER R.A. , GILBERT H.S. -
Muramidase in polycythemia vera.
Blood 1970 , 36 , 228 -232

15 - HALL C.A., - FINHLER A.E. -
Vitamine B 14 binding protein in polycythemia vera plasma
J. Lab. Clin. Med. 1969 , 73 , 60 - 69

16 - BERNARDOU A., CLAUVEL J.P., et coll -
Maladie de Vaquez. Etude clinique à propos de 144 cas.
Sem. Hop. Paris , 1968 , 44 , 2101 - 2112

17 - VALLEE G., BOIVIN , SOULIER J.P., DORMONT , -
Traitement actuel de la maladie de Vaquez.
Presse Méd. 1963 , 77 , 517 -519

18 - TURSZ , BOIVIN , MALLARME , HAHIM -
maladies de Vaquez familiales.
Presse Med. 1971 , 79 , 2427 - 2432

19 - TUBIANA M., FLAMANT R., ATTIE E., HAYAT M.,
A study of the hematological complications occuring in patients with polycythemia vera, treated by P 32 based on a serie of 296 patients.
Blood, 1968 , 32 , 536 - 548

20 - TUBIANA M., LOISEAU J.P., VALLEE G. -
Interêt des épreuves successives par le chrome et le fer radio-actif.
Nouv. Rev. Franç. Hemat. 1965 , 5 , 397 -424

21 - PINKHAS J., CHIVOT J.J., MICHEL H., CAEN J.P. -
Adenosine metabolism in plasma and platelets.

.../...

Elevated plasmatic adenosine deaminase activity, impared platelet C 14 - adenosine incorporation and hemostatic dysfunction in chronic myeloïd leukemia.
Rev. Europ. Clin. Biol. 1970 , 15 , 1108 - 1113

22 - PINKHAS J., CHIVOT J.J., CAEN J.P. -
Autoradiochromatographic studies on C 14 adenosine and C 14 adenine utilization by human plasma and platelets. Effect of detergents.
Rev. Europ. Clin. Biol. 1970 , 15 , 1104 - 1108

23 - EDWARDS E.A. , COOLEY M.H. -
Peripheral vascular symptoms as the initial manifestation of polycythemia vera.
JAMA 1970 , 214 , 1463

24 - BERNARDOU A., -
Accidents vasculaires des polyglobulies.
Gaz. Med. Franç. 1969 , 76 , 2871 - 2879

25 - COCCONI G. -
Diathèse hémorragique dans les hypercythémies érythrocytaires et plaquettaires.
Coagulation 1968 , 1 , 249 - 257

26 - LAGERLOF Bl., FRANZEN S. -
The ultrastructure of the megacaryocyte in polycythemia vera and chronic myeloïd leukemia.
Acta. Path. Microbio. Scand. Section. 1972 , 80 , 71 -83

27 - VAINER H., DEPERNET B., CAEN J.P. -
Etude des nucléotides, des ATP ases et des adénylkinases dans les plaquettes humaines, fraîches, congelées et lyophilisées.
Coagulation, 1968, 1 , 211 - 215

28 - CRONBERG S., CAEN J.P. -
Release reaction in washed platelet suspensions induced by kaolin and others particles.
Scand. J. Hémat. 1971 , 8 , 151 - 160

29 - HERMANSKY F., MATOUSOVA O., CAEN J.P. -
Effect offluoride on blood platelet glycogen.
Coagulation 1971, 4 , 103 - 105

30 - VETHAMANY U.G. , LAZARUS S.S., -
Ultrastructure localisation of MG ++ dependent dinitrophenol stimulated adenosine triphosphatase in human blood platelets.
J. Histochem. Cytochem. 1967 , 17 , 267 - 272

31 - CAEN J.P. , SULTAN ., DELOBEL J. -
Les thrombopathies acquises.
Nouv. Rev. Franç. Hémat. 1969, 9 , 553 - 564

32 - KONTRAS S.B. , NEWTON J.A., SIRAH H.D. -
Hematologica abnormalities in children with congenital heart disease.
JAMA 1966 , 165 , 611

33 - ALAGILLE D., GOFFAUX J. -
Le temps de saignement au cours des cardiopathies congénitales.
Nouv. Rev. Franç. Hémat. 1963 , 3 , 327

34 - HERMANSKY F., MATOUSOVA O., CAEN J.P. -
Etudes cytochimiques récentes de la glycogénèse plaquettaire.
Nouv. Rev. Franç. Hémat. 1969 , 9 , 667 - 669

35 - STEFANINI M., KARACA M. -
Thromboplastic activity and contents in lipids and phospholipids of platelets in polycythemia vera with thrombocytopathie.
Amer. J. Clin. Path. 1967 , 48 , 320 - 324

36 - KWAAN M.C. , and all -
Inhibition of fibrinolysis in platelets in polycythemia vera and thrombosis.
Brit. J. Haemat. 1971 , 21 , 313 - 322

37 - GALLAIS H. , CASANOVA P. -
Les polyglobulies.
Sem. Hôp. Paris 1970 , 46 , 2108 - 2110

38 - WASSERMAN L.R. -
The treatment of polycythemia : a panel discussion.
Blood 1968 , 32 , 483 - 487

39 - DAMESHEK W. -
The case for phlebotomy in polycythemia vera.
Blood 1968 , 32 , 488 -491

40 - MAC CLURE P.D., INGRAM Gl., STACEY R.S. and all -
platelet fonction test in thrombocythemia and thrombocytosis.
Brit. J. Haemat. 1966 , 12 , 478 - 498

41 - GUNZ F.W. ,
Hemorrhagic thrombocythemia : a critical review.
Blood 1960 , 15 , 706 - 723

42 - SULTAN Y., DELOBEL., CAEN J.P. -
Anomalies de l'hémostase primaire au cours de syndrômes myélo-prolifératifs.
Actualités hématologiques Paris, Masson 1969 , 95 -101

43 - CAEN J.P. -
Thrombopathie avec défaut d'adhésion au collagène
Actualités hématologiques Paris - Masson , 1969 47 - 54

44 - CAEN J.P., SULTAN Y., -
Les troubles de l'hémostase dans les hémopathies malignes.
Bruxelles Médical 1968 , 2 , 93 - 104

45 - DOUMENC J., SAMAMA M., et coll -
Les hémorragies des hémopathies malignes.
Gaz. Méd. Fr. 1967 , 74 , 4753 -4760

46 - BOUSSER J. -
Données récentes sur la leucémie myéloïde chronique.
Gaz. Med. Fr. 1971 , 78 , 2997 -3002

47 - TANGUN Y. -
Platelet agregation and platelet factor 3 activity in myeloproliferative disorders.
Thrombosis Diath. Heamorrh. 1971 , 25 , 241 -251

48 - CARDAMONE J.M., EDSON J.R., and all -
Abnormal platelet fonction in the myeloproliferative disorders.
Ann. Med. interm. 1971 , 74 , 826

49 - PROST-DVOJAKOVIC R.J., DOUMENC J., SAMAMA et coll -
Etude fonctionnelle plaquettaire dans les leucémies myelo-monocytaires et les anémies réfractaires.
Sem. Hôp. Paris 1972 , 48 , 1971 - 1976

50 - CRONBERG S., CAEN J.P. -
MG++ , Ca ++ induced platelet agregation and ADP
Thrombosis -Diath - Haemorrh. 1970 , 3 , 432 -437

51 - CAEN J.P., SINAKOS Z., SULTAN Y., VAINER H., BERNARD J. -
Les troubles du fonctionnement des plaquettes dans les leucoses myéloïdes chroniques.
Nouv. Rev. Franç. Hémat. 1966 , 6 , 719 - 726

58 - CAEN J.P., LARRIEU M.J., SAMAMA M. -
L'hémostase.
Méthodes d'exploration et diagnostic pratique.
Paris - L'expansion 1968.

59 - TANZER J., JACQUILLAT Cl. LEVY D. -
La leucémie myéloïde chronique : diagnostic et formes particulières : données récentes.

Actualités hématologiques Paris , Masson 1969, 67 - 79

60 - CAEN J.P., JOSSO F., SULTAN Y., MEYER. D., ALLAIN J.P. -
L'hémostase - Physiologie - Exploration fonctionnelle
L'Expansion Paris 1970

61 - BORN G., CROSS J. -
The agregation of blood platelets
J. Physiol. 1963, 168 , 178 - 185

62 - SINAKOS , CAEN J.P. -
Une technique simple quantitative de mesure de l'agrégation plaquettaire.
Rev. Franç. Etud. Clin. Biol. 1966, 11 , 539 - 554

63 - RABINER F., HRODEK O. -
Platelet factor 3 in normal subject and patients with rainal failure
J. Clin. Invest. 1968 ; 47 - 901

64 - CRONBERG S., CAEN J.P. -
Platelet agregation washed suspension
Scand. J. Haemat. 1971. 8, 161

65 - LEVY-TOLEDANO S., RENDU F., BESSON P., CAEN J.P. -
Agregation of human gel filtered platelet.
Requirement of apyrase and proteins
Rev. Europ. Etud. Clin. Biol. 1972, 17 , 513 - 518